



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO VETERINARIO**

TRABAJO FINAL INTEGRADOR

Título: “ESTUDIO SEROLOGICO DE ANEMIA INFECCIOSA AVIAR EN PARAGUAY”

Alumno: ALICIA MARIA ABENTE LAHAYE (Cohorte 2018)

Director: DR. EDUARDO MORTOLA

RESUMEN

La anemia infecciosa aviar es una enfermedad viral que se ha diseminado por todo el mundo, fundamentalmente en países con industria avícola desarrollada. Su agente etiológico conocido como virus de la Anemia Infecciosa Aviar, es un virus pequeño, del genero Gyrovirus y de la familia Circoviridae. La infección causa en pollos jóvenes un cuadro de anemia aplásica e inmunosupresión por atrofia de los órganos linfoides. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el virus de la Anemia Infecciosa Aviar en granjas de postura comercial de los departamentos de Paraguarí, Guairá y Caaguazú de Paraguay. Se seleccionaron 5 granjas comerciales y se realizó el monitoreo serológico de las aves de 10 a 12 semanas de edad, por medio de un kit comercial de ELISA indirecto. Del total de muestras analizadas se detectaron 20 muestras positivas (21,7%), en 3 de las granjas evaluadas. La presencia de anticuerpos frente al virus en ausencia de vacunación, puede considerarse una evidencia de circulación y desafío viral. Los hallazgos serológicos de este estudio, podrían ser indicativos de una distribución más generalizada del virus en el Paraguay, destacando la posibilidad que sea un patógeno emergente importante. Sin embargo, se requieren mayores esfuerzos para iniciar nuevas investigaciones, fortalecer el diagnóstico y adoptar estrategias de prevención y control para salvaguardar la producción avícola de este patógeno que puede ocasionar graves pérdidas económicas.

Palabras claves: anemia, virus, anticuerpos, serología, Paraguay.

ABSTRACT

Avian infectious anemia is a viral disease that has spread throughout the world along with the poultry industry. Its etiologic agent known as Avian Infectious Anemia Virus is a small virus, from the genus Gyrovirus and Circoviridae family. The infection causes a picture of aplastic anemia and immunosuppression due to the atrophy of the lymphatic organs in young chickens. The objective of this work was to detect the presence of specific antibodies against the Avian Infectious Anemia virus in commercial stall farms in the Paraguarí, Guairá and Caaguazú departments of Paraguay. Five commercial farms were selected and serological monitoring of subjects from 10 to 12 weeks of age was carried out with a commercial indirect ELISA kit. Of the

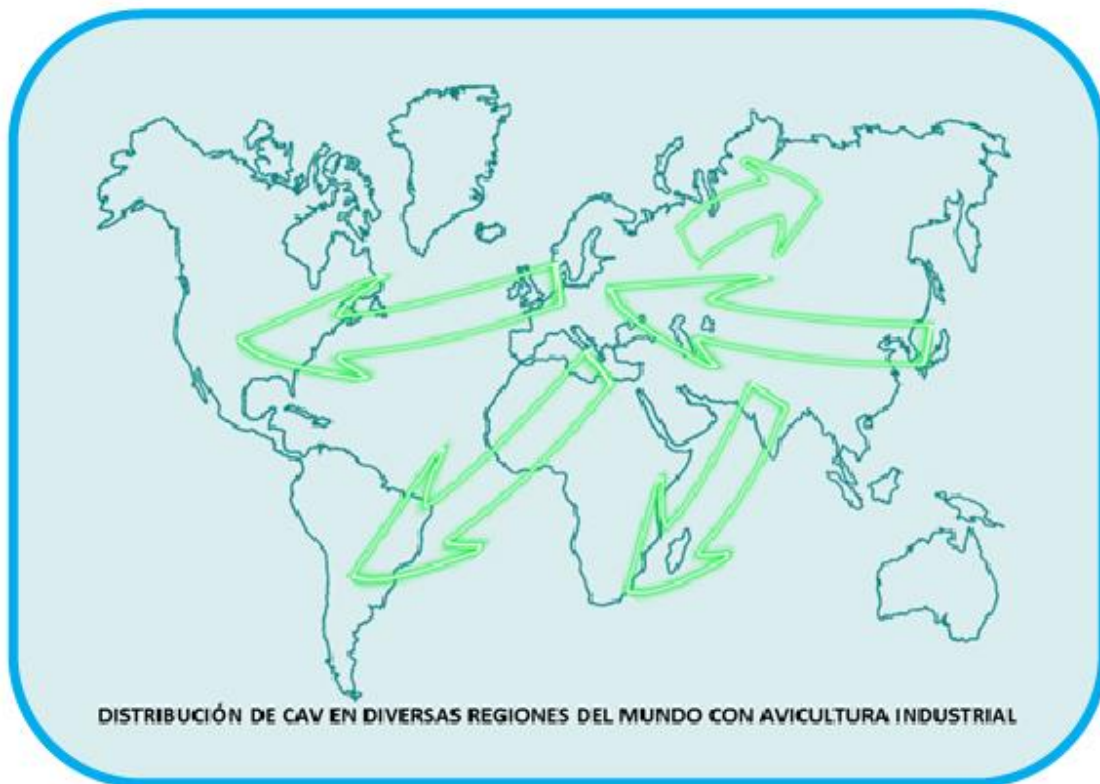
total samples analyzed, 20 samples were detected positive (21.7%) in three of the farms. The presence of antibodies against the virus in the absence of vaccination, can be considered as an evidence of circulation and viral challenge. The serological findings of this study could be indicative of a more generalized distribution of the virus in Paraguay, demonstrating the possibility of an important emerging pathogen. However, greater efforts are required to initiate new research, strengthen the diagnosis and adopt prevention and control strategies to safeguard the poultry production of this pathogen that can cause serious economic losses.

Key words: anemia, virus, antibodies, serology, Paraguay.

INTRODUCCIÓN

Anemia infecciosa aviar

La anemia infecciosa aviar se describió inicialmente en Japón en 1979, en 1981 en Europa y en EE.UU. en 1989, desde entonces, se ha diseminado por todos los países del mundo con industria avícola desarrollada, se caracteriza por causar un cuadro de anemia aplásica e inmunosupresión por atrofia de los órganos linfáticos en pollos jóvenes (Torrubia y col. 2014).



Extraído de: “Anemia Infecciosa Aviar: Vacunación Y Monitoreo Serológico”, por Lucas Sara, de Servicios Técnicos de Ceva Salud Animal.

El agente etiológico de la enfermedad fue aislado por primera vez en Japón por Yuasa, y hoy es conocido como CAV (del inglés Chicken Anaemia Virus), se trata de un virus pequeño de 23-25 nm, sin envoltura, con una cadena simple circular de ADN. Se lo clasificó en una nueva familia de virus, denominada Circoviridae, aunque no está relacionado con los circovirus porcinos

(PCV), ni con el virus de la enfermedad del pico y plumas de las psitácidas (PBFDV), dentro de esta familia, es el único miembro reconocido del género Gyrovirus, todos los CAV identificados a la fecha pertenecen a un mismo serotipo (Torrubia y col., 2014).

Debido a que el genoma del virus es muy pequeño, la replicación depende en gran medida de la maquinaria de replicación del ADN de las células hospedadoras, por este motivo, prefiere las células de multiplicación rápida (Torrubia y col., 2014).

El CAV es muy estable en condiciones ambientales y resiste tanto temperaturas altas (80°C durante 5 minutos) como valores extremos de pH, no se inactiva con éter ni cloroformo y resiste a la acción de los desinfectantes empleados comercialmente, como los amonios cuaternarios, jabones anfóteros y diclorobenceno. Es parcialmente resistente a iódoros y formol; sin embargo es susceptible a los hipocloritos. Debido a su resistencia, la erradicación del CAV en los establecimientos es difícil, por lo que la vacunación es considerada como la medida profiláctica ideal (Torrubia y col., 2014).

El CAV contiene tres proteínas denominadas VP1, VP2 y VP3, las dos primeras forman una estructura para la formación de la cápside y están involucradas en la respuesta inmune, la VP3 causa apoptosis de las células del timo (Torrubia y col., 2014).

Parámetros afectados y signos clínicos

Las formas de presentación de la enfermedad pueden ser clínica o aguda y subclínica, dependiendo de la edad de exposición y de la presencia o ausencia de anticuerpos maternos (Torrubia y col., 2014).

Dentro de los signos clínicos, se observa depresión y disminución de la ganancia de peso, aves con crestas y varillas pálidas, plumas erizadas, lesiones cutáneas generalmente en las alas, aunque también pueden estar presentes en patas y en la piel del tórax y el abdomen. Estas lesiones, se deben generalmente a hemorragias, que se vuelven cianóticas, rompen y liberan un exudado de seroso a sanguinolento. El único signo específico de CAV es la anemia, con valores de hematocrito que varían entre 6 y 20%, siendo el valor normal de 27%, y pancitopenia, dichos signos clínicos suelen aparecer entre los 7 y 20 días de edad, y han dado lugar a otras sinonimias de la enfermedad como síndrome de anemia-dermatitis, enfermedad de las alas azules, síndrome hemorrágico o síndrome de anemia infecciosa (Torrubia y col., 2014).

La mortalidad, que generalmente oscila entre el 5 y 10%, puede llegar a más del 60% y parece depender de la patogenicidad de la cepa, de la proporción de aves que provengan del plantel de reproductoras, origen de la transmisión vertical y de las infecciones concomitantes. La mortalidad máxima tiene lugar entre los 17 y 24 días de edad, aunque puede haber un segundo

pico de mortalidad entre los 30 y 34 días, probablemente debido a la transmisión horizontal o a infecciones secundarias. La morbilidad en el lote puede llegar a ser casi del 100%, con las consecuentes mermas productivas (Bulow, 1991; Torrubia y col., 2014).

La forma subclínica es más común que la clínica en aves de mayor edad. La duración de los anticuerpos maternos es de 2-3 semanas, después de lo cual las aves se vuelven sensibles a la infección. La infección subclínica conlleva una disminución del rendimiento productivo y pérdidas económicas asociadas (Torrubia y col., 2014).

Las lesiones empiezan a observarse a los 4 días posinfección, aunque la máxima expresión suele ser entre el día 12 y 21, macroscópicamente las más específicas suelen ser atrofia de la médula ósea y timo, ocasionalmente también de Bolsa de Fabricio y el bazo, depleción linfóide generalizada y hemorragias en la mucosa del proventrículo; ocasionalmente y microscópicamente, se pueden observar cuerpos de inclusión intranucleares tanto en células de la médula ósea como del timo, así como manchas oscuras en el núcleo de las células afectadas a causa de la replicación viral. El efecto citolítico del virus en las células precursoras de la médula provoca anemia, alteraciones de la coagulación y cuadros hemorrágicos debidos a la destrucción de los trombocitos (Bulow, 1991; Torrubia y col., 2014).

El signo más importante asociado a la infección es una marcada inmunosupresión, que se produce debido al efecto del virus sobre los precursores de los linfocitos T del timo y a la depleción de los linfocitos T cooperadores (CD4) y citotóxicos (CD8), esto genera una mayor sensibilidad a las infecciones provocadas por virus, bacterias y hongos, que frecuentemente deriva en una variedad de enfermedades multifactoriales, como el síndrome hemorrágico, la dermatitis gangrenosa o la hepatitis con cuerpos de inclusión, asociada a una anemia aplásica (Torrubia y col., 2014).

La razón principal por la cual la replicación del CAV es la causante de problemas subclínicos de inmunosupresión, es que el virus requiere de células en división (hemocitoblastos, células de la médula ósea, timocitos y linfocitos) para poder replicarse, ya que debido a su pequeño genoma viral, el CAV necesita las enzimas de las células en división para replicar su propio ADN (Torrubia y col., 2014).

Patogénesis

La patogénesis de la infección por CAV, que deriva de estudios histopatológicos, ultraestructurales e inmunocitoquímicos secuenciales, concluyen en que la infección citolítica temprana, a los 6 a 8 días pos infección, se encuentran implicados de manera primaria los hemocitoblastos en la médula ósea y los linfoblastos en la corteza del timo; así como también se

ha demostrado que la muerte de los timocitos corticales se debe a apoptosis (Bulow, 1991; Calnek y col., 2000).

En la médula ósea, aparte de los eritroblastos crecidos y de las células hematopoyéticas degeneradas, se han observado también gran cantidad de macrófagos con intensa actividad fagocítica (Calnek y col., 2000).

En contraste con el timo, no se detecta depleción de las células linfoides ni necrosis ocasional en la bolsa de Fabricio, bazo ni focos linfoides en otros tejidos, antes de los 10 a 12 días pos infección. La repoblación del timo con linfocitos de la médula ósea con proeritroblastos y promielocitos y la recuperación de la actividad hematopoyética a partir de los 16 días pos infección, parecen coincidir con el comienzo en la formación de anticuerpos; éstos eventos conducen a una recuperación completa alrededor de los 32 a 36 días (Calnek y col., 2000).

En el timo y en la médula ósea, las células infectadas son más abundantes a los 6 a 7 días pos infección y pueden detectarse hasta los 10 a 12 días o aún más tarde, la infección del proventrículo, parte ascendente del duodeno, riñón y pulmón puede aportar una explicación para la diseminación del virus en éstos tejidos. Por lo general, no se pueden detectar las células infectadas por más de 22 días después de la infección, aunque el virus puede persistir en los tejidos hasta los 28 días y en el contenido rectal hasta los 49 días o más (Calnek y col., 2000).

En pollos inmunosuprimidos mediante bursectomía, se aumenta de manera considerable la persistencia del virus (Adair, 2000; Calnek y col., 2000).

Se ha comunicado, que la susceptibilidad de los pollitos a la infección por CAV depende de las propiedades de las células precursoras del timo durante el desarrollo pre y pos nacimiento. Sin embargo, la resistencia por edad a la anemia infecciosa no se debe a la desaparición o aumento en la resistencia a una célula blanco específica (Calnek y col., 2000). A pesar de que CAV cuenta con un tropismo por el tejido linfóide, la susceptibilidad de los timocitos o de las células del bazo no depende de la expresión de ciertos marcadores celulares como CD4 o CD8 (Calnek y col., 2000). Por otro parte, una intensa depleción pasajera de linfocitos CD4+ o CD8+, o una disminución selectiva en las células T citotóxicas, puede tener alguna participación importante en el mecanismo de la inmunosupresión inducida por el virus de la anemia infecciosa del pollo (Calnek y col., 2000).

Transmisión

El CAV se transmite tanto de forma horizontal como vertical y puede estar presente de forma latente, la transmisión vertical ocurre en presencia o ausencia de anticuerpos, y puede incluir la transferencia de virus latente, o quizás sólo de DNA viral, esta vía da como resultado una enfermedad clínica severa, caracterizada por atrofia linfóide generalizada, aumento de la mortalidad y desarrollo de hemorragia subcutánea e intramuscular (Lopez, 2015).

La transmisión a través del huevo ocurre entre 8 y 14 días después de la infección de la gallina y dura a nivel de campo 9 semanas, con un máximo entre la semana 1 a 3, hasta que el 100% de las aves se infectan, en estos casos los pollitos infectados por vía vertical nacerán con pancitopenia y sufrirán la enfermedad clínica entre los 7 y 14 días (Torrubia y col., 2014).

Por otro lado, la infección horizontal se da por contacto directo o indirecto, ingresando por vía oral o respiratoria y siendo eliminado por materia fecal y por el epitelio de la pluma. Otra forma de transmisión es a través de vacunas contaminadas con CAV (Lopez, 2015).

El virus se encuentra en grandes concentraciones en las heces de pollos por 5 a 7 semanas luego de la infección. En el campo, las parvadas expuestas de manera natural a CAV, por lo común, les lleva de 2 a 4 semanas hasta que las aves muestren seroconversión (Calnek y col., 2000).

Inicialmente se pensó que la vía de transmisión vertical era la forma más importante, pero la transmisión horizontal es crucial para el establecimiento de la infección en parvadas comerciales, más importante aun cuando están inmunosuprimidas, ésta forma de transmisión puede atribuirse a la ruta oral-fecal, además de la mucosa traqueal. (Lopez, 2015).

Inmunidad

Los anticuerpos maternos generalmente desaparecen a las 3 semanas de edad y la mayoría de los lotes seroconvierten entre las 8 y 12 semanas de edad, probablemente por difusión horizontal, aunque estas infecciones parecen ser subclínicas (Torrubia y col., 2014). Si algún lote de reproductoras, empieza la puesta siendo seronegativo pero se infecta posteriormente, el CAV se transmite por vía vertical a toda la descendencia. En éste ejemplo, las reproductoras no presentarían signos clínicos y los pollitos recién incubados parecerían sanos, pero la enfermedad se desarrollaría a los 10-14 días de edad (Adair, 2000; Torrubia y col., 2014).

El periodo necesario para que el virus se difunda por todos los animales del plantel de reproductoras varía entre 3 y 6 semanas, durante las cuales se seguirán incubando huevos infectados, éste es también el tiempo para que se desarrollen suficientes anticuerpos que consigan suprimir la transmisión vertical (Torrubia y col., 2014).

Algunas investigaciones apuntaron al hecho de que las infecciones por CAV producen infecciones latentes en las aves, lo que pudo confirmarse posteriormente. Esto se sospechó al detectar ADN del CAV en tejido gonadal de aves con y sin anticuerpos, y en ausencia de una infección activa y éstos hallazgos pudieron aclarar el tema de la seroconversión inexplicable en lotes de aves SPF (lotes de aves libres de patógenos específicos) (Torrubia y col., 2014). La importancia de este fenómeno de latencia para la producción de aves comerciales no está clara, pero puede jugar un papel determinante en los brotes que se producen de manera inesperada, sobre todo cuando los lotes se alojan en condiciones de extrema limpieza, donde no existe un contacto repetido con los virus y donde, por lo tanto, no hay estimulación del sistema inmune. (Torrubia y col., 2014).

Diagnóstico

El diagnóstico de CIAV se basa principalmente en los signos clínicos, hallazgos macro y microscópicos de la necropsia, pero así también en pruebas serológicas como neutralización viral, ELISA indirecto e inmunofluorescencia indirecta y pruebas de detección directa como PCR, aislamiento en cultivos celulares, DotBlot e hibridación in situ (Lopez, 2015).

Aislamiento e identificación del agente causal

Métodos directos

El CAV se ha aislado de prácticamente todos los tejidos de pollos infectados, los títulos virales más elevados se han detectado a los siete pos infección (Calnek y col., 2000). En pollos inoculados al día 1 de edad, el contenido viral en los tejidos y en el contenido rectal permanecen casi constantes hasta los 21 días, de ahí en adelante declina con rapidez, sin embargo, en el suero pierde su efectividad después de 14 días (Calnek y col., 2000).

Trabajo reportaron que aún en aves con anticuerpos neutralizantes, la sangre entera y los linfocitos eran infecciosos durante 14 días y que pollos inoculados a las 4 a 6 semanas de edad, desarrollaron títulos virales altos en varios tejidos y en el contenido rectal a los 7 días pos infección, bajando de manera rápida a concentraciones bajas alrededor de los días 14 a 21; sin embargo, nunca se ha detectado CAV en el cerebro o suero de tales aves (Calnek y col., 2000).

El virus puede encontrarse en la mayoría de órganos, debido a que su replicación se da en las células madre progenitoras de los linajes de eritrocitos, trombocitos y granulocitos, los cuales se distribuyen en todo el organismo; sin embargo para su detección en el laboratorio se

recomienda que las muestras remitidas sean timo, bazo, médula ósea e hígado; este último contiene altas concentraciones de virus (Lopez, 2015).

El hígado se prefiere como una fuente de CAV debido a que contiene altas concentraciones del agente de manera más constante (Calnek y col., 2000). Para eliminar o inactivar contaminantes que podrían aparecer, se puede calentar a 70°C por cinco minutos un homogenizado hepático clarificado, o tratarse con cloroformo antes de usarlo como inóculo en los cultivos celulares (Calnek y col., 2000).

El método disponible más específico para el aislamiento primario de CAV, consiste en el bioensayo, mediante la inoculación intramuscular o intraperitoneal de pollitos de un día de vida, se los examinan a los 14 a 16 días o sino en los días 14 y 21 pos infección, se busca anemia, valor de hematocrito menor a 27%, también atrofia de médula ósea, que a su vez puede estar combinado o no de anemia (Calnek y col., 2000).

Los aislamientos *in vitro* y titulaciones virales pueden intentarse usando cultivos de células T linfoblastoides de pollo transformadas por virus de Marek (MDCC-MSB1), aunque algunas cepas de CAV no se replican en éstas fácilmente, por lo que deben usarse cultivos frescos que contengan 2×10^5 célula/mL y sembrarse a 10^5 células/cm² (Calnek y col., 2000). Brevemente, un homogenizado tisular preparado a una dilución de 1:20 o mayor, o en diluciones seriadas de 10 en 10, debe inocularse a una concentración de 0,1mL/1mL de cultivo, así como también se deben hacer subcultivos de las células MDCC-MSB1 cada 2 a 4 días. El daño celular que se desarrolla luego de 1 a 6 subcultivos, o a veces hasta 10, es indicativo de infección por virus de la anemia infecciosa del pollo (Calnek y col., 2000).

Se recomienda que se realice el examen microscópico de los cultivos después de las 36 horas y no posterior a las 48, luego de un subcultivo, para poder diferenciar los efectos citopáticos inducidos por el virus de la degeneración celular inespecífica (Calnek y col., 2000).

La detección por técnicas moleculares, incluyendo PCR, provee una alternativa a los métodos convencionales, ya que posee alta sensibilidad y especificidad, actualmente es una técnica sensible y específica que permite obtener resultados en un menor tiempo que un intento de aislamiento, es una prueba eficaz ya que detecta el DNA viral en todos los tejidos de pollo, incluidos los cañones de las plumas, siendo éstos una fuente excelente para la detección de CAV (Lopez, 2015).

El CAV en forma libre en las puntas de las plumas, o en homogenizado de tejidos como hígado y órganos linfoides de aves infectadas se puede detectar por PCR. Se ha demostrado que las plumas son efectivas para la detección del CAV ya que tiene ventajas en cuanto a

facilidad de muestreo, comparado con el análisis de órganos internos, y posee igual sensibilidad y especificidad, con valores de 89% y 83% respectivamente (Lopez, 2015).

Los iniciadores usados para la PCR tienen como blanco la región solapada que codifica VP2- VP3 y VP1-VP2, y fueron descritos la primera vez por Taylor, después de la secuencia completa del genoma del CAV, varios autores han desarrollado sus propios iniciadores con buenos resultados en la sensibilidad y especificidad de la prueba, además, el corte con enzimas de restricción de un segmento de DNA amplificado por PCR, permite la diferenciación y clasificación viral al mostrar el polimorfismo en los tamaños de los fragmentos de restricción (Lopez, 2015).

Métodos indirectos (serología)

Para la evaluación de la presencia de anticuerpos se han descrito métodos como el de ELISA indirecto, pruebas de seroneutralización viral, pruebas de inmunofluorescencia indirecta. Los anticuerpos contra CAV están presentes en aves vacunadas o que han sufrido la infección (Lopez, 2015)

La serología es importante para garantizar la seropositividad de las reproductoras antes de inicio de la producción de huevos y la técnica más práctica para ello es la prueba de ELISA indirecto, de la que existen varios kits comerciales disponibles (Torrubia y col., 2014).

En la prueba seroneutralización viral se mezclan diluciones seriadas dobles de suero o yema con una suspensión de CAV que contiene 200 a 500 dosis infectantes de cultivos de tejido (TCID₅₀)/ 0,1mL y se incuban las mezclas a 37°C por 60 minutos o a 4°C durante la noche, antes de realizar la prueba en el cultivo de células MSB1 (Calnek y col., 2000). La obtención de resultados puede tomar hasta cinco semanas y requerirse de 8 a 9 subcultivos, pero se pueden obtener resultados más pronto y omitir los subcultivos si la concentración viral en la mezcla se incrementa, los cultivos inoculados deben examinarse mediante microscopia para efectos citopáticos específicos de CAV, en los días 2 y 3 (Calnek y col., 2000). Las pruebas de seroneutralización viral cualitativas para detección de parvadas pueden efectuarse con una dilución constante de suero de 1:80 a 1:100 y una dosis alta de virus de prueba, no se recomiendan menores diluciones de suero, porque pueden ser en ocasiones citotóxicas u originar una inhibición inespecífica del virus (Calnek y col., 2000).

En la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), se colocan células MSB1 infectadas con CAV tomadas antes del inicio de la lisis celular (aproximadamente 36 a 42 horas después de la inoculación). Las células son extendidas en un frotis sobre portaobjetos, fijadas con acetona y empleadas como antígeno (Calnek y col., 2000). Las células reaccionan primero con el suero

problema diluido y luego se emplea un conjugado anti IgG de pollo marcado con fluoresceína, la tinción fluorescente de gránulos pequeños, de forma irregular, en el núcleo de las células agrandadas se considera evidencia de anticuerpos en el suero de prueba, siempre debe incluirse suero control positivo, los control negativo son de poco o ningún uso, ya que suelen ser seleccionados por no ser reactivos en la prueba de inmunofluorescencia indirecta, las células no infectadas como controles internos o externos nos ayudan a evaluar los tipos evidentes de fluorescencia inespecífica y el grado de tinción que podrían tener las reacciones inespecíficas (Calnek y col., 2000). Gran parte de los problemas se encuentran con la fluorescencia inespecífica, caracterizada principalmente por grandes inclusiones esféricas en el núcleo de células, de manera predominante en las etapas tardías luego de la infecciones. La tinción específica y la tinción de fondo que esconden las reacciones inespecíficas, llamada también fenómeno de prozona, se pueden reducir en bastante grado al utilizar suero de prueba diluido, por ejemplo 1:40 a 1:100 o mayor, esta tinción inespecífica puede controlarse también por medio de la selección de los conjugados (Calnek y col., 2000).

La prueba de inmunofluorescencia indirecta es menos sensible que la prueba de neutralización viral para detectar bajas concentraciones de anticuerpos contra CAV en sueros de pollos (Calnek y col., 2000).

Se han elaborado varias técnicas de ELISA indirecto que detectan y miden los niveles de anticuerpos contra CAV en suero de pollo. Entre ellas se destacan las pruebas de ELISA indirecto que utilizan anticuerpos monoclonales para capturar al CAV purificado de manera parcial a partir de cultivos de células MSB1. También existen las pruebas de ELISA cuyas placas tienen adsorbido directamente el virus parcialmente purificado. El CAV muy purificado es un antígeno adecuado para la prueba de ELISA indirecto, pero no es tan sencillo producirlo en las concentraciones y cantidades suficientes (Calnek y col., 2000). Ambas técnicas se han utilizado en la producción de equipos comerciales de ELISA.

Por lo general, la prueba de ELISA indirecto resulta más sensible que la seroneutralización viral y la inmunofluorescencia indirecta, y tan específica como la prueba de inmunofluorescencia indirecta (Calnek y col., 2000).

Diagnóstico diferencial

En los pollos menores de seis semanas de edad, una combinación de signos, cambios hematológicos, lesiones macro y microscópicas e historia de la parvada, son sugestivas de infección por CAV, sin embargo, no hay lesiones particulares que se puedan considerar patognomónicas (Calnek y col., 2000).

La anemia aplásica, pero no una pancitopenia, con una atrofia concurrente del timo y bolsa de Fabricio, y depresión de la respuesta inmune, también pueden ser ocasionadas por el virus de la osteopetrosis (Calnek y col., 1995). La anemia inducida por virus de la eritroblastosis se puede distinguir de la anemia inducida por CAV por medio de examen microscópico. El virus de la enfermedad de Marek y el virus de la infección de la bolsa de Fabricio inducen atrofia de tejidos linfoides con lesiones histológicas típicas, pero no originan anemia en pollos infectados de manera natural (Calnek y col., 1995). La anemia aplásica puede relacionarse con la enfermedad de Gumboro aguda, pero se desarrolla y desaparece mucho antes que en la anemia por CAV (Calnek y col., 2000).

La intoxicación con dosis altas de sulfonamidas o micotoxinas, como la aflatoxinas, pueden producir anemia aplásicas y “síndrome hemorrágico” (Calnek y col., 1995). La aflatoxina también puede alterar el sistema inmune, sin embargo, en las granjas los pollos pocas veces se exponen a dosis de aflatoxina o sulfanamidas que sean suficientemente altas como para ocasionar una enfermedad aguda, por otra parte, la intoxicación subclínica de pollos puede aumentar la patogenicidad de CAV (Calnek y col., 1995).

Tratamiento

No hay tratamiento específico para los pollos afectados por CAV, puede indicarse antibióticos de amplio espectro para controlar infecciones bacterianas que suelen vincularse con anemia infecciosa, generalmente también llamadas oportunistas (Calnek y col., 1995).

Prevención y control

Se recurre a la vacunación debido a la ubicuidad del virus, su gran resistencia a muchos de los desinfectantes disponibles comercialmente. Su potencial para causar infecciones latentes impide que pueda erradicarse fácilmente de las explotaciones comerciales (Torrubia y col., 2014).

En la actualidad no existen vacunas inactivadas frente al CAV, solamente hay disponibles en el mercado tres tipos de vacunas vivas atenuadas, que difieren entre si principalmente por su nivel de atenuación, estas se aplican exclusivamente a reproductoras entre las 10 y 15 semanas de edad, no a ponedoras ni a parrilleros. Las reproductoras son vacunadas no más tarde de 6 semanas, antes del comienzo de la producción de huevos. Se recomienda administrar las vacunas menos atenuadas en el agua de bebida y las más atenuadas por vía intramuscular, subcutánea o por punción alar, con diluyente especial que puede permitir la combinación con otras vacunas, también se recomienda antes de la vacunación, la evaluación de anticuerpos en los planteles de reproductoras mediante la prueba de ELISA indirecto para comprobar si los

animales se han infectado durante la recría y son positivos con niveles altos de anticuerpos (Torrubia y col., 2014).

Debe prestarse atención al tratamiento y procedimientos de higiene para prevenir la inmunosupresión por factores ambientales o enfermedades infecciosas, evitando la exposición temprana de la parvada al CAV (Calnek y col., 1995). Así como también vigilancia serológica de las reproductoras, para evitar infecciones de transmisión vertical.

OBJETIVOS

- Detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el virus de la Anemia Infecciosa Aviar (CAV) en granjas de postura comercial, en los departamentos de Paraguairí, Guairá y Caaguazú de Paraguay.
- Analizar los datos obtenidos y conocer la situación epidemiológica de la enfermedad en la región muestreada

HIPOTESIS

Existe serología positiva al virus de la Anemia Infecciosa aviar en aves de postura comercial en los departamentos de Paraguairí, Guairá y Caaguazú de Paraguay.

TOMA DE MUESTRAS

Se seleccionaron 5 granjas de aves comerciales (gallinas ponedoras de alta postura) ubicadas en los departamentos de Paraguairí, Guairá y Caaguazú, con y sin signos clínicos o problemas de desempeño asociados a posibles infecciones por CAV.

Por cada granja, se tomaron 20 muestras de sangre sin anticoagulante de la vena braquial, con jeringas estériles e individuales a cada una de las aves entre 10 a 12 semanas de edad. Se identificaron las muestras y refrigeraron. Cada granja muestreada tuvo una identificación única de forma que permita la total rastreabilidad, y se completó una planilla interna de recepción de muestras con los datos de cada granja.

En el laboratorio, se dio entrada a las muestras, identificando cada granja y anexando las informaciones de cada una a la base de datos.

Se extrajo el suero de cada jeringa, separando con cuidado el coagulo formado y depositando los sueros en tubos de 1,5 ml, luego se clasificaron en muestras aptas o no para el procesamiento y se conservaron a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó un kit comercial de ELISA indirecto para CAV, marca IDEXX, que posee el antígeno CAV pegado a la placa, controles positivos y negativos, conjugado, diluyente, solución de sustrato TMB, solución de frenado y solución de lavado concentrado.

Los materiales utilizados para la prueba fueron jeringas, tubos de 1,5 ml, pizeta de lavado, placas de dilución, micropipetas monocanales y multicanales, punteras o tips, papeles absorbentes. La lectura se realizó en un lector espectrofotométrico de placas de ELISA marca Rayto. Los resultados fueron interpretados por el software que provee el kit diagnóstico.

El kit comercial de IDEXX, por medio de su software, emitió los cálculos de los resultados medidos por el espectrofotómetro y así como también resúmenes de datos.

Descripción y principios

El kit IDEXX CAV utilizó un pocillo de microtitulación tapizado con antígeno del virus de anemia en el pollo. Durante la primera incubación, los anticuerpos frente al CAV que se encontraron en la muestra reaccionaron con los antígenos inmovilizados. Después de un paso de lavado, se agregó un conjugado enzimático con anticuerpos monoclonales anti-CAV al pocillo. En las muestras que no presentaban anticuerpos anti-CAV, el conjugado anti-CAV reaccionó con el antígeno CAV. Por otra parte, las muestras que si presentaron anticuerpos anti-CAV, los anticuerpos monoclonales conjugados con enzima quedaron bloqueados e incapaces de reaccionar con el antígeno. Después de este período de incubación, el conjugado que no reaccionó se eliminó mediante un lavado y se agregó una solución sustrato y cromógeno. El sustrato se convirtió, en presencia de la enzima, en un producto que reaccionó con el cromóforo y produjo un color azul. La absorbancia a 650 nm, A (650), se midió utilizando un lector de ELISA. Los resultados se calcularon mediante el software, dividiendo la absorbancia A (650) de la muestra por la media A (650) del control negativo, lo cual resulta en un valor M/N (muestra a negativo). La proporción de anticuerpos frente a CAV fue inversamente proporcional al valor A (650) y por lo tanto al valor M/N. La presencia de anticuerpos frente a CAV indicó exposición previa al CAV.

Preparación de las muestras

La dilución de las muestras de suero (1/10) se realizó en tubos de microdilución, colocando 10 µl de la muestra con 90 µl del Diluyente de la Muestra en los mismos. Las muestras fueron homogenizadas completamente antes de ser dispensadas en la placa. Los controles no fueron diluidos.

Para este estudio, se realizó la dilución que recomienda el laboratorio para muestras de exposición de campo al virus, dilución 1/10.

Preparación de la solución de lavado

Una vez que la Solución de Lavado Concentrada (10X) alcanzó 18–26°C, se agitó garantizando la disolución de sales precipitadas. La Solución de Lavado Concentrada (10X) fue diluida en una proporción de 1/10 con agua destilada antes de ser empleada (30 ml de Solución de Lavado Concentrada (10X) más 270 ml de agua por una placa).

Procedimiento de la Prueba

Se dejó que los reactivos alcancen 18–26°C y luego fueron agitados suavemente por inversión y con un movimiento circular.

1. En la placa tapizada de antígeno se registró la posición de las muestras.
2. Se depositó 100 µl de Control Negativo NO DILUIDO en pocillos por duplicado.
3. Se depositó 100 µl de Control Positivo NO DILUIDO en pocillos por duplicado.
4. Se depositó 100 µl de muestra diluida en los pocillos correspondientes.
5. Se incubó durante 60 minutos (\pm 5 minutos) a 18–26°C.
6. Se lavó cada pocillo entre tres a cinco veces con 300 µl de Solución de Lavado.
7. Se depositó 100 µl de Conjugado a cada pocillo.
8. Se incubó durante 30 minutos (\pm 2 minutos) a 18–26°C.
9. Se repitió el paso 6.
10. Se depositó 100 µl de Substrato TMB en cada pocillo.
11. Se dejó incubando durante 15 minutos (\pm 1 minuto) a 18–26°C.
12. Se depositó 100 µl de la Solución de Frenado en cada pocillo.
13. Se leyeron los valores de absorbancia en el lector de ELISA a 650 nm, A(650), los cuales fueron subidos al software de IDEXX para su análisis

En el ANEXO se muestran fotos del procedimiento.

Interpretación de los resultados

Para que el ensayo sea válido, la densidad óptica del control negativo (650 nm) debe ser mayor o igual que 0,60 y el M/N (razón muestra a negativo) del control positivo deberá ser menor o igual que 0,59. Cuando los análisis no sean válidos, debe sospecharse de una falla en la técnica y el ensayo deberá repetirse. La presencia o ausencia de anticuerpo frente a CAV se determina por la razón muestra a negativo (M/N) de cada una de las muestras (Interpretación de acuerdo a las Tabla 1).

Tabla 1: Amplitudes de Correlación para la prueba IDEXX CAV Ab

Dilución de la muestra 1:10			
Título Anticuerpos VN (log ²)	Estado	S/N de ELISA	Resultado ELISA
< 4	Negativo (Sin Título)	> 0,6	Negativo
5–7	Positivo (Títulos Bajos)	0,59–0,20	Positivo
> 8	Positivo (Títulos Protectores)	< 0,2	Positivo

Tabla 1. Amplitudes de correlación para la prueba de IDEXX CAV Ab. Extraído del manual de IDEXX.

RESULTADOS

Los niveles de anticuerpos desarrollados por las aves de postura comercial contra el virus de la Anemia Infecciosa Aviar en ausencia de vacunación por el método de ELISA fueron los siguientes: de un total de 92 muestras analizadas se detectaron 20 muestras positivas (21,7%) a CAV, siendo negativas 72 muestras (78,3%). De las 5 granjas monitoreadas se detectaron muestras positivas a CAV en 3 de ellas (60%).

Se monitorearon dos granjas en cada departamento de Guairá y Caaguazú, de estas cuatro granjas se detectaron muestras positivas en una granja de cada uno de los departamentos. Del departamento de Paraguari se monitoreo una única granja que dio positiva a la prueba de CAV (Tabla 2).

Granja	Departamento	Edad (sem)	GMean*	CV %**	Min	Max	Positivos	Negativos	Total
1	Paraguari	10	0,831	24,7	0,151	1,066	1	14	15
2	Guairá	12	0,577	62,2	0,068	1,041	7	11	18
3	Guairá	12	0,834	8,7	0,738	0,967	0	19	19
4	Caaguazú	12	0,866	10,3	0,705	1,024	0	19	19
5	Caaguazú	12	0,450	72	0,067	0,911	12	9	21
							20	72	92

Tabla 2. Resumen de los resultados serológicos del test de ELISA por IDEXX.

*Media geométrica

**Porcentaje de Coeficiente de Variación

En el ANEXO, se muestran los gráficos de las determinaciones realizadas en las 5 granjas. Los resultados se expresaron en S/N (siglas en inglés sample/negative), traducido como muestra sobre control negativo (M/N).

DISCUSIÓN

En el Paraguay no existen estudios oficiales que referencien la presencia del virus de CAV, por ese motivo, las instituciones del Estado no permiten los registros de vacunas contra dicha enfermedad. Debido a esto, surgió el interés en hacer un estudio serológico para detectar en forma indirecta la presencia del virus en la población aviar

Este estudio se llevó a cabo a través del test de ELISA indirecto, en aves de postura comercial, con y sin signos clínicos, sin vacunación y de 10 a 12 semanas de edad, para evitar resultados falsos positivos por la interferencia con los anticuerpos maternos. Si bien en Paraguay no se realiza vacunación contra CAV, las pollitas de reposición de un día de vida para postura comercial, llegan al país generalmente importadas del Brasil, donde las reproductoras livianas son vacunadas contra CAV generalmente entre la semana 10 y 15 de edad. Una vez en la granja y entre las 10 y 12 semanas de edad, en muchas ocasiones las aves parecen seroconvertir sin síntomas visibles (Hoop y col., 1992). También es posible que los síntomas relacionados con la infección por CAV no se informen porque no se reconocieron como tales. En cualquiera de los casos, la infección subclínica tiene un impacto negativo en la productividad, con graves consecuencias económicas (Goodwin y col., 1993; McNulty y col., 1991).

En Paraguay, la industria avícola, tanto la de postura comercial como engorde, se encuentra situada alrededor del Departamento Central, por lo que se escogió las granjas de los departamentos de Paraguairí, Guairá y Caaguazú para realizar el muestreo. El presente estudio serológico sobre CAV, el primero realizado en Paraguay, reveló la circulación del virus en el país. A consecuencia del número de muestras procesadas, podemos referir a la presencia del virus, pero no a la seroprevalencia. El escaso muestreo fue debido principalmente a la residencia de los propietarios de las granjas a realizar el estudio serológico y detectar la enfermedad, de la cual no hay registro en el país. Sin embargo, el 60% de las granjas muestreadas resultó positiva por serología a la enfermedad y las mismas pertenecen a los departamentos de Guairá, Caaguazú y Paraguairí.

La presencia de anticuerpos contra CAV es indicativo de infecciones de campo, por la exposición de las aves al virus en algún momento de la línea de producción. Al ser un virus altamente contagioso, podría servir como una fuente potente de diseminación a otras áreas geográficas (Bhatt y col., 2011).

La prevalencia de CAV es mundial y similares a nuestros hallazgos, recientes reportes en países africanos y asiáticos han detectado seroprevalencia en sus rebaños de aves de corral

(Emikpe y col., 2005; Roussan, 2006; Farhoodi y col., 2007; Oluwayelu, 2010, Owoade y col., 2004) que indicarían que CAV es un patógeno emergente en varias partes del mundo.

Las respuestas inadecuadas a las vacunas, la aparición de otras enfermedades infecciosas y las infecciones secundarias, comúnmente observadas en condiciones de campo, pueden estar asociadas con la infección por CAV (McNulty y col., 1991; Valle, 1993). Nuestros hallazgos serológicos de CAV en los 3 departamentos evaluados del Paraguay podrían ser indicativos de una distribución más generalizada del virus en el país, destacando la posibilidad de una posible enfermedad emergente. Sin embargo, se requieren esfuerzos por parte del gobierno y los sistemas de producción para iniciar nuevas investigaciones y fortalecer las instalaciones de diagnóstico, junto con el diseño y adaptación de estrategias adecuadas de prevención y control, para proteger la salud de las aves de corral y salvaguardar la producción avícola de este patógeno económicamente importante. Considerando que los países vecinos optan por la vacunación y evaluando los resultados de una pequeña proporción de la población avícola, sería recomendable contar con una amplia gama de vacunas contra CAV en el mercado paraguayo para prevenir las infecciones y sus consiguientes pérdidas económicas (Ledesma y col., 2001). La anemia de pollo se ha asociado con pérdidas en la productividad, ya sea debido a la enfermedad en sí misma o como resultado de infecciones secundarias debidas a la inmunodepresión (Dhama, 2008; Hagood, 2000). Asimismo, los agricultores deben ser instruidos sobre el reconocimiento de los signos clínicos y la importancia sanitaria y económica de la enfermedad.

CONCLUSIONES

- En 3 de las 5 (60%) de las granjas monitoreadas se observó seroconversión para la enfermedad mediante la prueba de ELISA.
- La presencia de anticuerpos frente a CAV en ausencia de vacunación, puede considerarse una evidencia de circulación y desafío viral.
- Se recomienda realizar un seguimiento seriado de las mismas granjas para identificar si aumenta la seroconversión.
- El análisis mediante diagnóstico molecular puede ser determinante para detectar la presencia del agente causal.
- El inicio de la vacunación en Paraguay, sería una medida adecuada de control preventivo de la enfermedad, para evitar la diseminación del virus y sus graves consecuencias económicas en los sistemas productivos.

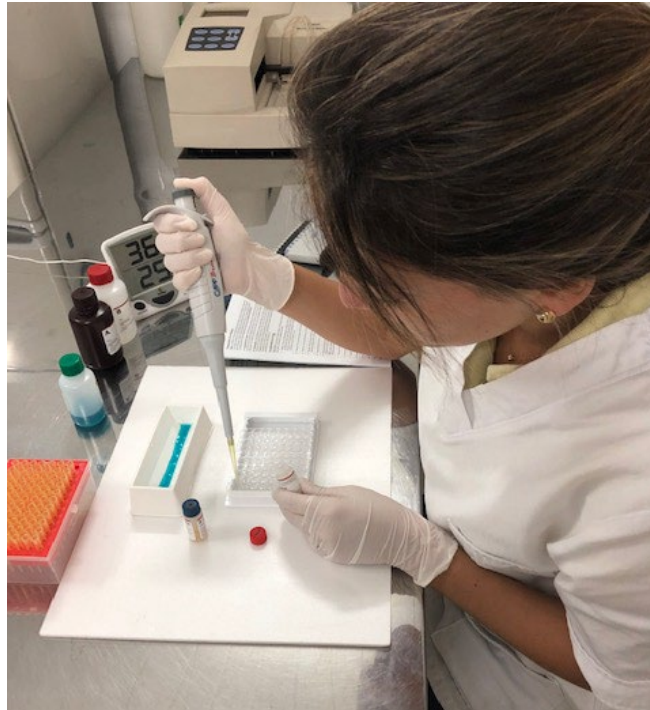
BIBLIOGRAFIA

- ADAIR, B. M. Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection. *Dev. Comp. Immunol.* 24:247– 255. 2000.
- BHATT P.; SHUKLA, S.; MAHENDRAN, M.; DHAMA, K.; CHAWAK, M.; KATARIA, J. Prevalence of chicken infectious anaemia virus (CIAV) in commercial poultry flocks of northern India: a serological survey. *Transbound Emerg Dis.* 458-60. 2011.
- BULOW, V. V. Infectious anaemia. In: *Diseases of poultry*, 9th ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, and H. W. Yoder, eds. Iowa State University Press, Ames, IA. pp. 690–699. 1991.
- CALNEK, B.; BARNES, J.; BEARD, C.; McDOUGALD, L.; SAIF, Y. Enfermedades de las aves. México. *El Manual Moderno.* 757-770 p. 2000.
- DHAMA, K., M. MAHENDRAN, R. SOMVANSHI; M.M. CHAWAK. Chicken infectious anemia virus: an immunosuppressive pathogen of poultry – A review. *Indian J. Vet. Pathol.* 32, 158–167. 2008.
- EMIKPE B.O; OLUWAYELU D.O; OHORE O.G; OLADELE O.A; OLADOKUN AT. Serological evidence of chicken anemia virus infection in Nigerian indigenous chickens. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, 72: 101- 103. 2005.
- FARHOODI M.R; TOROGHI R.B; KIANIZADEH M. Chicken infectious anemia virus infection among broiler chicken flocks in Iran. *Archives of Razi Institute*, 62: 1-6. 2007.
- GOODWIN, M. A.; M. A. SMELTZER; J. BROWN; T. GIRSHIK; B. L. MACMURRAY; S. MACCARTER. Effect of so-called chicken anaemia agent maternal antibodies on chick serologic conversion to viruses in the field. *Avian Dis.* 37:542–545. 1993.
- HAGOOD, L. T.; T. F. KELLY; J. C. WRIGHT; F. J. HOERR. Evaluation of chicken infectious anaemia virus and associated risk factors with disease and production losses in broilers. *Avian Dis.* 44:803–808. 2000..
- HOOP, R. K.; F. GUSCETTI; B. KELLER. An outbreak of infectious chicken anemia in fattening chickens in Switzerland [in German]. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 134:485–489. 1992.
- LEDESMA, N.; FEHERVARI, T.; CASAUBON, T.; LUCIO, E. and RATZ, F. Chicken Infectious Anemia in Mexico: Virus Identification and Serology Survey. *Avian Diseases*, Vol. 45, No. 4, pp. 788-796. 2001.

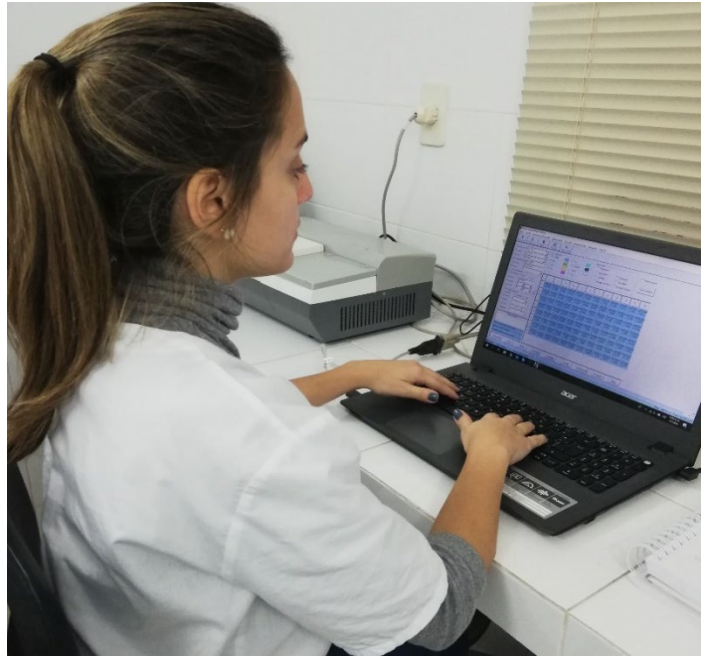
- LOPEZ, S. Presencia de los virus de la enfermedad de Marek y Anemia Infecciosa Aviar en aves de levante del norte y oriente del departamento de Antioquia. Tesis (Máster en Ciencias Veterinarias, línea de investigación en enfermedades infecciosas). Antioquia, Colombia. FCA. UdeA. 22-38 p. 2015.
- McNULTY, M.; MCLLROY, S.; D. W, BRUCE and D. Todd. Economic effects of subclinical chicken anemia agent infection in broiler chickens. *Avian Dis.* 35:263-268. 1991.
- OLUWAYELU D.O. Diagnosis and epidemiology of chicken infectious anemia in Africa. *African Journal of Biotechnology*, 9: 2043-2049. 2010.
- OWOADE, D. O.; OLUWAYELU, O. A. FAGBOHUN, W. AMMERLAAN, M. N. MULDER, and C. P. MULLER. Serologic Evidence of Chicken Infectious Anemia in Commercial Chicken Flocks in Southwest Nigeria. *Avian Diseases*, 48(1):202-205. 2004.
- ROUSSAN D.A. Serological survey on the prevalence of chicken infectious anemia virus in commercial broiler chicken flocks in Northern Jordan. *International Journal of Poultry Science*, 5: 544-546. 2006.
- TORRUBIA, F.; GOMEZ, C.; VAN DEN BERG, T.; TELLEZ, S.; HAUCK, R. Vacunación en avicultura. España. *Servet.* 58-63p. 2014.
- VALLE, V. M. N., and D. E. Lucio. Demostración de la presencia de anticuerpos y del virus de la anemia infecciosa en México por medio de la prueba de inmunoperoxidasa indirecta. In: *Memorias de la XVIII Convención Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas*, Cancún, Quintana Roo, México DE pp. 328-335. May 5-9, 1993.

ANEXOS

Fotos de realización de la prueba de ELISA





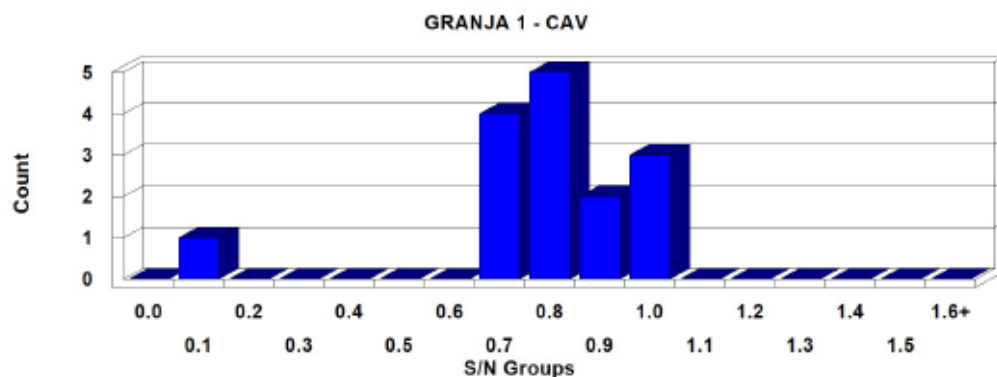


Resultado granja 1 Software IDEXX

IDEXX Laboratories, Inc.
Westbrook, ME 04092
USA
30/1/2019



Analyze Case Report



Count: 15
GMean: 0.831
Mean: 0.778
SD: 0.205
%CV: 24.7
Min: 0.151
Max: 1.066
Tech: 123
Date: 30/1/19
Dil: 1:10

Case: GRANJA 1 - CONTROL ANEMIA INFECCIOSA AVIAR

CAV - 30/1/19 - 123 - 1:10

	Well	O.D.	S/N	Result
Neg	A01	1.208		
Neg	A02	1.119		
Pos	A03	0.086		
Pos	A04	0.115		
1	A05	0.844	0.726	Neg
2	A06	0.919	0.790	Neg
3	A07	0.921	0.792	Neg
4	A08	1.116	0.960	Neg
5	A09	1.240	1.066	Neg
6	A10	1.191	1.024	Neg
7	A11	1.182	1.016	Neg
8	A12	0.983	0.845	Neg
9	B01	0.978	0.841	Neg
10	B02	1.005	0.864	Neg
11	B03	0.176	0.151	Pos!
12	B04	0.957	0.823	Neg
13	B05	0.911	0.783	Neg
14	B06	1.073	0.923	Neg
15	B07	1.004	0.863	Neg

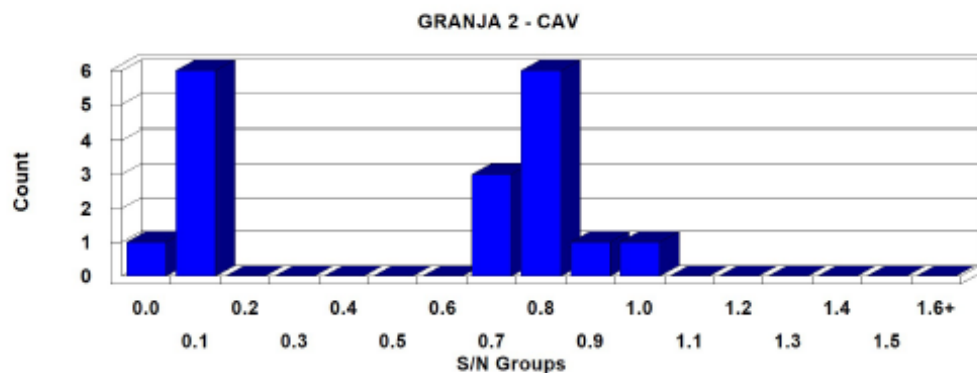
S/N
AMn: 0.831
GMn: 0.778
SD: 0.205
CV: 24.7
Min: 0.151
Max: 1.066

Resultado granja 2 Software IDEXX

IDEXX Laboratories, Inc.
Westbrook, ME 04092
USA
30/1/2019



Analyze Case Report



Count: 18
GMean: 0.577
Mean: 0.409
SD: 0.359
%CV: 62.2
Min: 0.068
Max: 1.041
Tech: 123
Date: 30/1/19
Dil: 1:10

Case: GRANJA 2 - CONTROL ANEMIA INFECCIOSA AVIAR

CAV - 30/1/19 - 123 - 1:10

	Well	O.D.	S/N	Result
Neg	A01	1.208		
Neg	A02	1.119		
Pos	A03	0.086		
Pos	A04	0.115		
1	B08	0.878	0.755	Neg
2	B09	0.172	0.148	Pos!
3	B10	0.079	0.068	Pos!
4	B11	0.963	0.828	Neg
5	B12	0.202	0.174	Pos!
6	C01	1.063	0.914	Neg
7	C02	1.036	0.891	Neg
8	C03	1.013	0.871	Neg
9	C04	0.145	0.125	Pos!
10	C05	0.884	0.760	Neg
11	C06	0.979	0.842	Neg
12	C07	0.141	0.121	Pos!
13	C08	0.874	0.752	Neg
14	C09	1.041	0.895	Neg
15	C10	0.133	0.114	Pos!
16	C11	1.036	0.891	Neg
17	C12	1.211	1.041	Neg
18	D01	0.227	0.195	Pos!

S/N
AMn: 0.577
GMn: 0.409
SD: 0.359
CV: 62.2
Min: 0.068
Max: 1.041

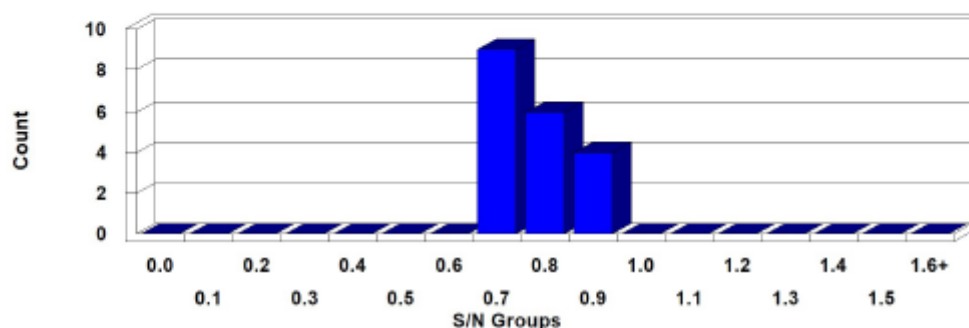
Resultado granja 3 Software IDEXX.

IDEXX Laboratories, Inc.
Westbrook, ME 04092
USA
30/1/2019



Analyze Case Report

GRANJA 3 - CAV



Count: 19
GMean: 0.834
Mean: 0.830
SD: 0.072
%CV: 8.7
Min: 0.738
Max: 0.967
Tech: 123
Date: 30/1/19
Dil: 1:10

Case: GRANJA 3 - CONTROL ANEMIA INFECCIOSA AVIAR

CAV - 30/1/19 - 123 - 1:10

	Well	O.D.	S/N	Result
Neg	A01	1.208		
Neg	A02	1.119		
Pos	A03	0.086		
Pos	A04	0.115		
1	D02	1.125	0.967	Neg
2	D03	1.013	0.871	Neg
3	D04	0.893	0.768	Neg
4	D05	1.090	0.937	Neg
5	D06	1.054	0.906	Neg
6	D07	0.993	0.854	Neg
7	D08	1.043	0.897	Neg
8	D09	0.905	0.778	Neg
9	D10	0.887	0.763	Neg
10	D11	0.895	0.770	Neg
11	D12	0.884	0.760	Neg
12	E01	1.062	0.913	Neg
13	E02	1.023	0.880	Neg
14	E03	1.018	0.875	Neg
15	E04	0.858	0.738	Neg
16	E05	1.025	0.881	Neg
17	E06	0.881	0.758	Neg
18	E07	0.900	0.774	Neg
19	E08	0.870	0.748	Neg

S/N
AMn: 0.834
GMn: 0.830
SD: 0.072
CV: 8.7
Min: 0.738
Max: 0.967

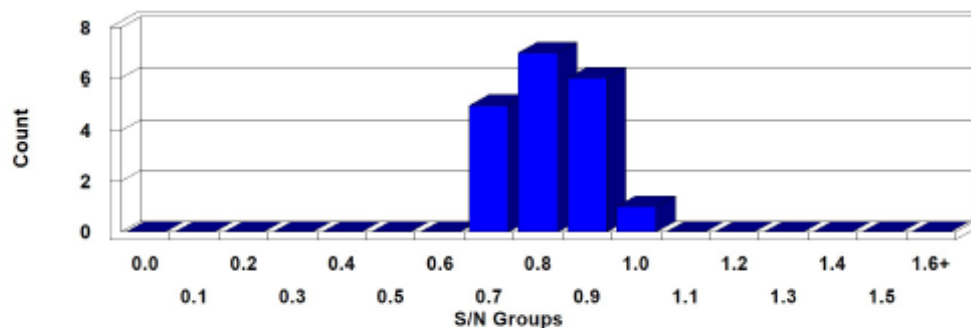
Resultado granja 4 Software IDEXX

IDEXX Laboratories, Inc.
Westbrook, ME 04092
USA
30/1/2019



Analyze Case Report

GRANJA 4 - CAV



Count: 19
GMean: 0.866
Mean: 0.861
SD: 0.089
%CV: 10.3
Min: 0.705
Max: 1.024
Tech: 123
Date: 30/1/19
Dil: 1:10

Case: GRANJA 4 - CONTROL ANEMIA INFECCIOSA AVIAR

CAV - 30/1/19 - 123 - 1:10

	Well	O.D.	S/N	Result
Neg	A01	1.208		
Neg	A02	1.119		
Pos	A03	0.086		
Pos	A04	0.115		
1	E09	1.079	0.928	Neg
2	E10	1.056	0.908	Neg
3	E11	0.972	0.836	Neg
4	E12	1.006	0.865	Neg
5	F01	0.849	0.730	Neg
6	F02	0.878	0.755	Neg
7	F03	0.820	0.705	Neg
8	F04	0.905	0.778	Neg
9	F05	1.157	0.995	Neg
10	F06	1.090	0.937	Neg
11	F07	1.015	0.873	Neg
12	F08	0.996	0.856	Neg
13	F09	1.031	0.887	Neg
14	F10	0.967	0.831	Neg
15	F11	0.893	0.768	Neg
16	F12	1.191	1.024	Neg
17	G01	1.152	0.991	Neg
18	G02	1.092	0.939	Neg
19	G03	0.984	0.846	Neg

S/N
AMn: 0.866
GMn: 0.861
SD: 0.089
CV: 10.3
Min: 0.705
Max: 1.024

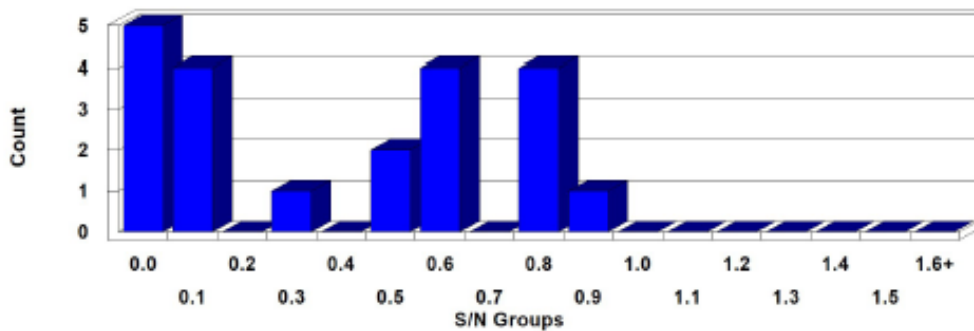
Resultado granja 5 Software IDEXX.

IDEXX Laboratories, Inc.
Westbrook, ME 04092
USA
30/1/2019



Analyze Case Report

GRANJA 5 - CAV



Count: 21
GMean: 0.450
Mean: 0.302
SD: 0.324
%CV: 72.0
Min: 0.067
Max: 0.911
Tech: 123
Date: 30/1/19
Dil: 1:10

Case: GRANJA 5 - CONTROL ANEMIA INFECCIOSA AVIAR

CAV - 30/1/19 - 123 - 1:10

	Well	O.D.	S/N	Result
Neg	A01	1.208		
Neg	A02	1.119		
Pos	A03	0.086		
Pos	A04	0.115		
1	G04	0.220	0.189	Pos!
2	G05	0.790	0.679	Neg
3	G06	0.126	0.108	Pos!
4	G07	0.095	0.082	Pos!
5	G08	0.801	0.689	Neg
6	G09	0.666	0.573	Pos!
7	G10	0.114	0.098	Pos!
8	G11	1.059	0.911	Neg
9	G12	0.985	0.847	Neg
10	H01	0.142	0.122	Pos!
11	H02	0.988	0.850	Neg
12	H03	0.093	0.080	Pos!
13	H04	1.011	0.869	Neg
14	H05	0.082	0.071	Pos!
15	H06	1.026	0.882	Neg
16	H07	0.724	0.623	Neg
17	H08	0.356	0.306	Pos!
18	H09	0.658	0.566	Pos!
19	H10	0.803	0.690	Neg
20	H11	0.179	0.154	Pos!
21	H12	0.078	0.067	Pos!

S/N
AMn: 0.450
GMn: 0.302
SD: 0.324
CV: 72.0
Min: 0.067
Max: 0.911